

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-132471

(P2018-132471A)

(43) 公開日 平成30年8月23日(2018.8.23)

(51) Int.Cl.

GO1N 33/576 (2006.01)

F I

GO1N 33/576

Z

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 26 頁)

(21) 出願番号 特願2017-27560 (P2017-27560)  
 (22) 出願日 平成29年2月17日 (2017.2.17)

(71) 出願人 504160781  
 国立大学法人金沢大学  
 石川県金沢市角間町ヌ7番地  
 (74) 代理人 100088904  
 弁理士 庄司 隆  
 (74) 代理人 100124453  
 弁理士 資延 由利子  
 (74) 代理人 100135208  
 弁理士 大杉 卓也  
 (74) 代理人 100152319  
 弁理士 曾我 亜紀  
 (72) 発明者 酒井 佳夫  
 石川県金沢市角間町ヌ7番地 国立大学法  
 人金沢大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非アルコール性脂肪性肝炎検出方法、該肝炎の重篤度判定方法及び該肝炎の治療評価判定方法

(57) 【要約】

【課題】非アルコール性脂肪性肝疾患が肝炎を伴わない単純性脂肪肝ではなく、炎症や肝細胞障害を伴い肝硬変へ進展する非アルコール性脂肪性肝炎であるかどうかを判定する方法、さらには該肝炎に進行するかを予測するための方法を開発すること。

【解決手段】非アルコール性脂肪性肝炎モデルと単純性脂肪肝モデルでの遺伝子発現を比較し、非アルコール性脂肪性肝炎モデルで発現が向上している遺伝子を特定した。そして、該遺伝子を検出することを特徴とする非アルコール性脂肪性肝炎検出方法を完成した。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

被験者から得られた生体試料中の以下の(1)～(51)のいずれか1以上から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の検出方法又は検出を補助する方法、

- (1) T細胞サブセット分泌シグナルに關与する遺伝子、
- (2) Native CD4+ T細胞分化に關与する遺伝子、
- (3) G-proteinsignaling\_Cross-talk between Ras-family GTPasesに關与する遺伝子、
- (4) 關節炎におけるサイト/ケモカイン発現におけるPDE4調節に關与する遺伝子、
- (5) Th17、Th22及びTh9細胞分化に關与する遺伝子、 10
- (6) 酸化的リン酸化に關与する遺伝子、
- (7) 加齡黄斑変性におけるNALP3インフラマソーム活性に關与する遺伝子、
- (8) SLEにおけるB細胞の役割に關与する遺伝子、
- (9) IL-10シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (10) COPDにおける細胞間關連に關与する遺伝子、
- (11) Tヘルパー細胞の免疫反応ICOSシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (12) アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割に關与する遺伝子、
- (13) 上皮間葉転換(EMT)の發生制御に關与する遺伝子、
- (14) SLEにおけるNETosisに關与する遺伝子、 20
- (15) IL-1シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (16) ストレス誘導抗ウイルス性細胞反応におけるPKRの役割に關与する遺伝子、
- (17) 抗原提示細胞(APC)のSLE遺伝マーカー特異的パスウェイに關与する遺伝子、
- (18) 脂質代謝の制御{脂肪代謝のG-アルファ(q)制御}に關与する遺伝子、
- (19) RNAウイルス感染への先天性免疫反応に關与する遺伝子、
- (20) CD8+ T細胞の分化及びクローン増殖に關与する遺伝子、
- (21) ストレス誘導アポトーシスにおけるPKRのアポトーシス及び生存の役割に關与する遺伝子、
- (22) MAPKsを介した炎症誘発性サイトカインのP物質刺激発現に關与する遺伝子、
- (23) IL-33シグナルパスウェイに關与する遺伝子、 30
- (24) コピキノン代謝に關与する遺伝子、
- (25) MIF媒介性グルココルチコイド制御に關与する遺伝子、
- (26) 加齡黄斑変性の病因における脂質輸送異常及び代謝異常に關与する遺伝子、
- (27) IL-18シグナル伝達に關与する遺伝子、
- (28) HGFシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (29) Th17細胞分化に關与する遺伝子、
- (30) 肝細胞におけるIL-6誘導性急性期応答に關与する遺伝子、
- (31) IL-23シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (32) 慢性關節リウマチに關与する遺伝子、
- (33) 炎症性皮膚疾患における細胞/ケモカイン発現のPDE4制御に關与する遺伝子、 40
- (34) 鎌状赤血球症における物質P媒介性炎症及び疼痛に關与する遺伝子、
- (35) 樹状細胞成熟及び移動におけるHMGB1の役割に關与する遺伝子、
- (36) HMGB1/RAGEシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (37) 転写サイレンシングにおけるヘテロクロマチンタンパク質1(HP1)ファミリーの役割に關与する遺伝子、
- (38) HSP60及びHSP70/TLRシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- (39) CF中のTh17細胞に關与する遺伝子、
- (40) 乾癬IL-23/T17発症軸の役割に關与する遺伝子、
- (41) タイプ2免疫におけるIL-4応答性遺伝子に關与する遺伝子、
- (42) 脂肪細胞分化におけるフタル酸ジエチルヘキシル及びトリブチルスズの役割に關 50

与する遺伝子、

- ( 4 3 ) アレルギー性接触皮膚炎のT細胞動員の開始に關与する遺伝子、
- ( 4 4 ) 結腸直腸癌に關与する遺伝子、
- ( 4 5 ) C5a誘導走化性に關与する遺伝子、
- ( 4 6 ) 緑内障における網膜神経節細胞損傷に關与する遺伝子、
- ( 4 7 ) 免疫反応におけるPGE2シグナル伝達に關与する遺伝子、
- ( 4 8 ) TLR3及びTLR4誘導TICAM1-特異的シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 4 9 ) ビスフェノールAによる脂肪細胞分化の刺激の推定経路に關与する遺伝子、
- ( 5 0 ) JAK/STAT、p38、JNK及びNF-κBを介したIL-3シグナル伝達に關与する遺伝子、及び
- ( 5 1 ) 骨粗鬆症關与遺伝子の制御におけるVDRの役割に關与する遺伝子。

10

【請求項 2】

測定したマーカーの測定値が、単純性脂肪肝の患者から得られた生体試料中の測定値よりも高い、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

さらに、CD29、CD45及び / 又はCD44を検出することを含む請求項 1 又は 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記マーカーは、以下のいずれか 1 以上から選ばれる請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 に記載の方法：

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、IFN-gamma、TNF-beta、TNF-alpha、AHR、ROR-gamma、CD80、c-Maf、CD40(TNFRSF5)、RAP-1A、RaiA、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1、IP10、Bcl-6、IL23R、PAK1、B-RCC36、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、Fc gamma RII beta、IFN-alpha、OX40(TNFRSF4)、COX-2(PGTS2)、Hemoxygenase 1、HPGD、I-TAC、CCR2、Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1、ATP5I、Beta-adrenergic receptor、ABCA1、PEMT、SDP1、LPL、HDL proteins、HGF、IL-1RI、Endothelin-1、HGF receptor (Met)、NOTCH4、Vimentin、PAI1、PDGF-D、Frizzled、Histone H2、Histone H2A、TLR7、Histone H4、HistoneH1、COX-2 (PTGS2)、TLR3、IFN-beta、TRIF (TICAM1)、MDA-5、LXR-alpha、cPLA2、APOC2、APOC1、CD36、PLC-beta、TANK、CD137ligand(TNFSF9)、ATF-3、eIF4E、PI3K cat class IA (p110-beta)、CCL13、VCAM1、Histone H2B、eNOS、Apaf-1、CXCL16、PLAU(UPA)、Syndecan-1、AGP1 (ORM1)、SAA1、SAA2、MxA、Cyclin A2、HP1 alpha、HP1gamma、HP1、DNMT3A、CD69、HSP70、Eotaxin-2、CCL7、A-FABP、C/EBPalpha、ALPHA-PIX、HSP27、BAD、Factor H、EDNRB、GATA-2、ID1、Calcitonin、VDR、及びRANK(TNFRSF11A)。

30

【請求項 5】

被験者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか 1 から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定測定方法又は重篤度判定測定を補助する方法。

40

【請求項 6】

非アルコール性脂肪性肝炎治療中の患者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか 1 から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法又は治療評価判定方法を補助する方法。

【請求項 7】

50

以下のいずれか 1 以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎検出キット：

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、IFN-gamma、TNF-beta、TNF-alpha、AHR、ROR-gamma、CD80、c-Maf、CD40(TNFRSF5)、RAP-1A、RaiA、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1、IP10、Bcl-6、IL23R、PAK1、BRCC36、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、Fc gamma RII beta、IFN-alpha、OX40(TNFRSF4)、COX-2(PTGS2)、Heme oxygenase 1、HPGD、I-TAC、CCR2、Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1、ATP51、Beta-adrenergic receptor、ABCA1、PEMT、SDP1、LPL、HDL proteins、HGF、IL-1R1、Endothelin-1、HGF receptor (Met)、NOTCH4、Vimentin、PAI1、PDGF-D、Friszled、Histone H2、Histone H2A、TLR7、Histone H4、HistoneH1、COX-2 (PTGS2)、TLR3、IFN-beta、TRIF (TICAM1)、MDA-5、LXR-alpha、cPLA2、APOC2、APOC1、CD36、PLC-beta、TANK、CD137ligand(TNFSF9)、ATF-3、eIF4E、PI3K cat class IA (p110-beta)、CCL13、VCAM1、Histone H2B、eNOS、Apaf-1、CXCL16、PLAU(UPA)、Syndecan-1、AGP1 (ORM1)、SAA1、SAA2、MxA、Cyclin A2、HP1 alpha、HP1gamma、HP1、DNMT3A、CD69、HSP70、Eotaxin-2、CCL7、A-FABP、C/EBPalpha、ALPHA-PIX、HSP27、BAD、Factor H、EDNRB、GATA-2、ID1、Calcitonin、VDR、及びRANK(TNFRSF11A)。

10

#### 【請求項 8】

以下のいずれか 1 以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定キット：

20

CD29、CD45及びCD44。

#### 【請求項 9】

以下のいずれか 1 以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定キット：

CD29、CD45及びCD44。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【技術分野】

#### 【0001】

本発明は、非アルコール性脂肪性肝炎検出方法、該肝炎の重篤度判定方法及び該肝炎の治療評価判定方法に関するものである。

30

#### 【背景技術】

#### 【0002】

(慢性肝疾患)

慢性肝疾患では、肝内炎症と肝細胞障害が持続し、それに伴い肝線維化が進展し、終末状態では肝硬変に至る(参照：非特許文献1)。肝硬変では、門脈圧亢進症による食道静脈瘤破裂など様々な重篤な合併症発症、さらに肝不全へ進行する。また、肝硬変は肝細胞癌発生の高危険状態である。これらのため、肝硬変では、生活の質の著しい低下、予後の悪化が大きな問題である。慢性肝疾患には、B型、C型ウイルス肝炎、アルコール性肝障害、非アルコール性脂肪性肝炎、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性胆管炎等がある。

40

#### 【0003】

(非アルコール性脂肪性肝疾患)

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD: non alcoholic fatty liver disease) は、アルコールの飲酒歴がないにも関わらず、アルコール性肝炎類似の大滴性の脂肪沈着を呈する疾患である。該疾患には、肝炎を伴わない単純性脂肪肝(SS: simple steatosis)と、炎症や肝細胞障害を伴い肝硬変へ進展する非アルコール性脂肪性肝炎(NASH: non alcoholic steatohepatitis)が含まれる。肥満・脂質異常症・糖尿病などの生活習慣病がNASHの病態に關与していることが示唆されている。

近年、生活習慣病増加に伴い慢性肝疾患に占めるNASHの割合が増加している。現在のと

50

ころNASHの発症、病態進展の機序が明らかにされておらず、NASH発症予防、NASHから肝硬変への進展の抑制や、肝発癌を抑制する確立した予防・治療法はない。

【0004】

(先行技術)

以下の先行技術が知られている。

特許文献1では、「被験者の生体試料における、sCD40、HMGB1、sPLA2 groupIIA及びsPLA2活性からなる群より選ばれる1以上の因子をマーカーとして測定する工程を含む、非アルコール性脂肪肝炎の検出を補助するための方法」を開示している。しかし、特許文献1に記載の非アルコール性脂肪性肝炎関連マーカーは、本発明で使用するマーカーとは異なり、さらに非アルコール性脂肪性肝炎と単純性脂肪肝ではない健康者との比較により得られたものである。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】WO2011/046204号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Amico,G.D. et al. Natural history and prognostic indicators of survival incirrhosis: A systematic review of 118 studies.44, 217-231 (2006)

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

非アルコール性脂肪性肝炎は、比較的炎症が軽度な場合には、運動及び食事療法並びに必要に応じて薬物療法が適用されるが、患者の日々の生活の負担が重い。

そこで、本発明者らは、非アルコール性脂肪性肝疾患が肝炎を伴わない単純性脂肪肝ではなく、炎症や肝細胞障害を伴い肝硬変へ進展する非アルコール性脂肪性肝炎であるかどうかを判定する方法、さらには該肝炎に進行するかを予測するための方法を開発することを目的とした。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、上記課題を解決するために、非アルコール性脂肪性肝炎モデルと単純性脂肪肝モデルでの遺伝子発現を比較し、非アルコール性脂肪性肝炎モデルで発現が向上している遺伝子を特定した。そして、該遺伝子を検出することを特徴とする非アルコール性脂肪性肝炎検出方法を完成した。

30

【0009】

本発明は以下からなる。

1. 被験者から得られた生体試料中の以下の(1)~(51)のいずれか1以上から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の検出方法又は検出を補助する方法、

40

(1) T細胞サブセット分泌シグナルに関与する遺伝子、

(2) Native CD4+ T細胞分化に関与する遺伝子、

(3) G-proteinsignaling\_Cross-talk between Ras-family GTPasesに関与する遺伝子、

(4) 関節炎におけるサイト/ケモカイン発現におけるPDE4調節に関与する遺伝子、

(5) Th17、Th22及びTh9細胞分化に関与する遺伝子、

(6) 酸化リン酸化に関与する遺伝子、

(7) 加齢黄斑変性におけるNALP3インフラマソーム活性に関与する遺伝子、

(8) SLEにおけるB細胞の役割に関与する遺伝子、

(9) IL-10シグナルパスウェイに関与する遺伝子、

(10) COPDにおける細胞間関連に関与する遺伝子、

(11) Tヘルパー細胞の免疫反応ICOSシグナルパスウェイに関与する遺伝子、

50

- ( 1 2 ) アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割に關与する遺伝子、
- ( 1 3 ) 上皮間葉転換 ( EMT ) の発生制御に關与する遺伝子、
- ( 1 4 ) SLEにおけるNETosisに關与する遺伝子、
- ( 1 5 ) IL-1シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 1 6 ) ストレス誘導抗ウイルス性細胞反応におけるPKRの役割に關与する遺伝子、
- ( 1 7 ) 抗原提示細胞 ( APC ) のSLE遺伝マーカー特異的パスウェイに關与する遺伝子、
- ( 1 8 ) 脂質代謝の制御 { 脂肪代謝のG-アルファ ( q ) 制御 } に關与する遺伝子、
- ( 1 9 ) RNAウイルス感染への先天性免疫反応に關与する遺伝子、
- ( 2 0 ) CD8+ T細胞の分化及びクローン増殖に關与する遺伝子、 10
- ( 2 1 ) ストレス誘導アポトーシスにおけるPKRのアポトーシス及び生存の役割に關与する遺伝子、
- ( 2 2 ) MAPKsを介した炎症誘発性サイトカインのP物質刺激発現に關与する遺伝子、
- ( 2 3 ) IL-33シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 2 4 ) ユビキノン代謝に關与する遺伝子、
- ( 2 5 ) MIF媒介性グルココルチコイド制御に關与する遺伝子、
- ( 2 6 ) 加齢黄斑変性の病因における脂質輸送異常及び代謝異常に關与する遺伝子、
- ( 2 7 ) IL-18シグナル伝達に關与する遺伝子、
- ( 2 8 ) HGFシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 2 9 ) Th17細胞分化に關与する遺伝子、 20
- ( 3 0 ) 肝細胞におけるIL-6誘導性急性期応答に關与する遺伝子、
- ( 3 1 ) IL-23シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 3 2 ) 慢性関節リウマチに關与する遺伝子、
- ( 3 3 ) 炎症性皮膚疾患における細胞/ケモカイン発現のPDE4制御に關与する遺伝子、
- ( 3 4 ) 鎌状赤血球症における物質P媒介性炎症及び疼痛に關与する遺伝子、
- ( 3 5 ) 樹状細胞成熟及び移動におけるHMGB1の役割に關与する遺伝子、
- ( 3 6 ) HMGB1/RAGEシグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 3 7 ) 転写サイレンシングにおけるヘテロクロマチンタンパク質1 ( HP1 ) ファミリーの役割に關与する遺伝子、
- ( 3 8 ) HSP60及びHSP70/TLRシグナルパスウェイに關与する遺伝子、 30
- ( 3 9 ) CF中のTh17細胞に關与する遺伝子、
- ( 4 0 ) 乾癬IL-23/T17発症軸の役割に關与する遺伝子、
- ( 4 1 ) タイプ2免疫におけるIL-4応答性遺伝子に關与する遺伝子、
- ( 4 2 ) 脂肪細胞分化におけるフタル酸ジエチルヘキシル及びトリブチルスズの役割に關与する遺伝子、
- ( 4 3 ) アレルギー性接触皮膚炎のT細胞動員の開始に關与する遺伝子、
- ( 4 4 ) 結腸直腸癌に關与する遺伝子、
- ( 4 5 ) C5a誘導走化性に關与する遺伝子、
- ( 4 6 ) 緑内障における網膜神経節細胞損傷に關与する遺伝子、
- ( 4 7 ) 免疫反応におけるPGE2シグナル伝達に關与する遺伝子、 40
- ( 4 8 ) TLR3及びTLR4誘導TICAM1-特異的シグナルパスウェイに關与する遺伝子、
- ( 4 9 ) ビスフェノールAによる脂肪細胞分化の刺激の推定経路に關与する遺伝子、
- ( 5 0 ) JAK/STAT、p38、JNK及びNF-kBを介したIL-3シグナル伝達に關与する遺伝子、 及び
- ( 5 1 ) 骨粗鬆症關与遺伝子の制御におけるVDRの役割に關与する遺伝子。
- 2 . 測定したマーカーの測定値が、単純性脂肪肝の患者から得られた生体試料中の測定値よりも高い、前項 1 に記載の方法。
- 3 . さらに、CD29、CD45及び / 又はCD44を検出することを含む前項 1 又は 2 に記載の方法。
- 4 . 前記マーカーは、以下のいずれか 1 以上から選ばれる前項 1 ~ 3 のいずれか 1 に記 50

## 載の方法：

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、IFN-gamma、TNF-beta、TNF-alpha、AHR、ROR-gamma、CD80、c-Maf、CD40(TNFRSF5)、RAP-1A、Ra1A、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1、IP10、Bcl-6、IL23R、PAK1、BRCC36、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、Fc gamma RII beta、IFN-alpha、OX40(TNFRSF4)、COX-2(PTGS2)、Hemeoxygenase 1、HPGD、I-TAC、CCR2、Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1、ATP5I、Beta-adrenergic receptor、ABCA1、PEMT、SDP1、LPL、HDL proteins、HGF、IL-1R1、Endothelin-1、HGF receptor (Met)、NOTCH4、Vimentin、PAI1、PDGF-D、Frizzled、Histone H2、Histone H2A、TLR7、Histone H4、HistoneH1、COX-2 (PTGS2)、TLR3、IFN-beta、TRIF (TICAM1)、MDA-5、LXR-alpha、cPLA2、APOC2、APOC1、CD36、PLC-beta、TANK、CD137ligand(TNFSF9)、ATF-3、eIF4E、PI3K cat class IA (p110-beta)、CCL13、VCAM1、Histone H2B、eNOS、Apaf-1、CXCL16、PLAU(UPA)、Syndecan-1、AGP1 (ORM1)、SAA1、SAA2、MxA、Cyclin A2、HP1 alpha、HP1gamma、HP1、DNMT3A、CD69、HSP70、Eotaxin-2、CCL7、A-FABP、C/EBPalpha、ALPHA-PIX、HSP27、BAD、Factor H、EDNRB、GATA-2、ID1、Calcitonin、VDR、及びRANK(TNFRSF11A)。

10

5．被験者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか1から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定測定方法又は重篤度判定測定を補助する方法。

6．非アルコール性脂肪性肝炎治療中の患者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか1から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法又は治療評価判定方法を補助する方法。

20

7．以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎検出キット：

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、IFN-gamma、TNF-beta、TNF-alpha、AHR、ROR-gamma、CD80、c-Maf、CD40(TNFRSF5)、RAP-1A、Ra1A、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1、IP10、Bcl-6、IL23R、PAK1、BRCC36、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、Fc gamma RII beta、IFN-alpha、OX40(TNFRSF4)、COX-2(PTGS2)、Heme oxygenase 1、HPGD、I-TAC、CCR2、Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1、ATP5I、Beta-adrenergic receptor、ABCA1、PEMT、SDP1、LPL、HDL proteins、HGF、IL-1R1、Endothelin-1、HGF receptor (Met)、NOTCH4、Vimentin、PAI1、PDGF-D、Frizzled、Histone H2、Histone H2A、TLR7、Histone H4、HistoneH1、COX-2 (PTGS2)、TLR3、IFN-beta、TRIF (TICAM1)、MDA-5、LXR-alpha、cPLA2、APOC2、APOC1、CD36、PLC-beta、TANK、CD137ligand(TNFSF9)、ATF-3、eIF4E、PI3K cat class IA (p110-beta)、CCL13、VCAM1、Histone H2B、eNOS、Apaf-1、CXCL16、PLAU(UPA)、Syndecan-1、AGP1 (ORM1)、SAA1、SAA2、MxA、Cyclin A2、HP1 alpha、HP1gamma、HP1、DNMT3A、CD69、HSP70、Eotaxin-2、CCL7、A-FABP、C/EBPalpha、ALPHA-PIX、HSP27、BAD、Factor H、EDNRB、GATA-2、ID1、Calcitonin、VDR、及びRANK(TNFRSF11A)。

30

8．以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定キット：

40

CD29、CD45及びCD44。

9．以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定キット：

CD29、CD45及びCD44。

## 【発明の効果】

【0010】

本発明は、非アルコール性脂肪性肝炎検出方法、該肝炎の重篤度判定方法及び該肝炎の治療評価判定方法を提供することができる。

## 【図面の簡単な説明】

50

## 【 0 0 1 1 】

【図 1】AT+HF給餌マウスの組織所見及び遺伝子発現解析の結果。A：AT+HF給餌マウスのHE染色、Azan染色。倍率：x100倍、Scale bars:200 μm。B：肝組織の遺伝子発現解析結果。肝組織のAlb、Col4a1及びTnfの発現をreal-time定量PCRにて測定した。縦軸にACTBと比較した発現量を示す。\*P<0.05

【図 2】AT+HF給餌によるNASHマウスモデルとHFD-60によるSSマウスモデルの肝肉眼所見及び組織所見と肝内炎症細胞の遺伝子発現解析の結果。A：Azan染色、F4/80染色、Gr-1染色。倍率：x100倍、Scale bar:200 μm。B：発現クラスタリング解析結果。

【図 3】非アルコール性脂肪性肝炎に特異的に発現した又は特異的に発現が上昇した遺伝子。

【図 4】非アルコール性脂肪性肝炎に特異的に発現した又は特異的に発現が上昇した遺伝子。

【図 5】非アルコール性脂肪性肝炎進行度の相違による表面抗原解析結果。

【発明を実施するための形態】

## 【 0 0 1 2 】

(本発明の対象)

本発明は、以下の非アルコール性脂肪性肝炎検出方法、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定方法及び非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法を対象とする。

○非アルコール性脂肪性肝炎検出方法

被験者から得られた生体試料中の以下の(1)～(10)のいずれか1から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の検出方法又は検出を補助する方法。

- (1) 免疫反応T細胞サブセット分泌シグナルに關与する遺伝子
- (2) 免疫反応Native CD4+ T細胞分化に關与する遺伝子
- (3) G-proteinsignaling\_Cross-talk between Ras-family GTPasesに關与する遺伝子
- (4) 関節炎におけるサイト/ケモカイン発現におけるPDE4調節に關与する遺伝子
- (5) 免疫反応Th17、Th22及びTh9細胞分化に關与する遺伝子
- (6) 酸化的リン酸化に關与する遺伝子
- (7) 加齢黄斑変性におけるNALP3インフラマソーム活性に關与する遺伝子
- (8) SLEにおけるB細胞の役割に關与する遺伝子
- (9) 免疫反応IL-10シグナルパスウェイに關与する遺伝子
- (10) COPDにおける細胞間関連に關与する遺伝子
- (11) Tヘルパー細胞の免疫反応ICOSシグナルパスウェイに關与する遺伝子
- (12) アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割に關与する遺伝子
- (12) アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割に關与する遺伝子
- (13) 上皮間葉転換(EMT)の発生制御に關与する遺伝子
- (14) SLEにおけるNETosisに關与する遺伝子
- (15) 免疫反応IL-1シグナルパスウェイに關与する遺伝子
- (16) 免疫反応ストレス誘導抗ウイルス性細胞反応におけるPKRの役割に關与する遺伝子
- (17) 抗原提示細胞(APC)のSLE遺伝マーカー特異的パスウェイに關与する遺伝子
- (18) 脂質代謝の制御{脂肪代謝のG-アルファ(q)制御}に關与する遺伝子
- (19) 免疫反応RNAウイルス感染への先天性免疫反応に關与する遺伝子
- (20) 免疫反応CD8+ T細胞の分化及びクローン増殖に關与する遺伝子
- (21) ストレス誘導アポトーシスにおけるPKRのアポトーシス及び生存の役割に關与する遺伝子
- (22) 免疫反応(MAPKsを介した炎症誘発性サイトカインのP物質刺激発現)に關与する遺伝子

10

20

30

40

50



- ( 2 3 ) 免疫反応IL-33シグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 2 4 ) ユビキノン代謝に關与する遺伝子
- ( 2 5 ) 免疫反応MIF媒介性グルココルチコイド制御に關与する遺伝子
- ( 2 6 ) 加齡黄斑変性の病因における脂質輸送異常及び代謝異常に關与する遺伝子
- ( 2 7 ) 免疫反応IL-18シグナル伝達に關与する遺伝子
- ( 2 8 ) 発生HGFシグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 2 9 ) 免疫反応Th17細胞分化に關与する遺伝子
- ( 3 0 ) 免疫反応肝細胞におけるIL-6誘導性急性期応答に關与する遺伝子
- ( 3 1 ) 免疫反応IL-23シグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 3 2 ) 慢性關節リウマチに關与する遺伝子 10
- ( 3 3 ) 炎症性皮膚疾患における細胞/ケモカイン発現のPDE4制御に關与する遺伝子
- ( 3 4 ) 鎌状赤血球症における物質P媒介性炎症及び疼痛に關与する遺伝子
- ( 3 5 ) 免疫反応樹状細胞成熟及び移動におけるHMGB1の役割に關与する遺伝子
- ( 3 6 ) 免疫反応HMGB1/RAGEシグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 3 7 ) 転写 { 転写サイレンシングにおけるヘテロクロマチンタンパク質1 (HP1) ファミリーの役割 } に關与する遺伝子
- ( 3 8 ) 免疫反応HSP60及びHSP70/TLRシグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 3 9 ) CF中のTh17細胞に關与する遺伝子
- ( 4 0 ) 乾癬IL-23/T17発症軸の役割に關与する遺伝子
- ( 4 1 ) 免疫反応タイプ2免疫におけるIL-4応答性遺伝子に關与する遺伝子 20
- ( 4 2 ) 脂肪細胞分化におけるフタル酸ジエチルヘキシル及びトリブチルスズの役割に關与する遺伝子
- ( 4 3 ) スキーマ：アレルギー性接触皮膚炎のT細胞動員の開始に關与する遺伝子
- ( 4 4 ) 結腸直腸癌に關与する遺伝子
- ( 4 5 ) 走化性C5a誘導走化性に關与する遺伝子
- ( 4 6 ) 緑内障における網膜神経節細胞損傷に關与する遺伝子
- ( 4 7 ) 免疫反応 ( 免疫反応におけるPGE2シグナル伝達 ) に關与する遺伝子
- ( 4 8 ) 免疫反応TLR3及びTLR4誘導TICAM1-特異的シグナルパスウェイに關与する遺伝子
- ( 4 9 ) ビスフェノールAによる脂肪細胞分化の刺激の推定経路に關与する遺伝子
- ( 5 0 ) 免疫反応JAK/STAT、p38、JNK及びNF-κBを介したIL-3シグナル伝達に關与する遺伝子 30
- ( 5 1 ) 転写骨粗鬆症關与遺伝子の制御におけるVDRの役割に關与する遺伝子
- 非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定方法
- 被験者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか1から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定方法又は重篤度判定を補助する方法。
- なお、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度とは、病理学的には、Matteoni分類、NAFLD activity scoreで評価することができる。
- 非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法
- 非アルコール性脂肪性肝炎治療中の患者から得られた生体試料中のCD29、CD45及びCD44のいずれか1から選ばれたマーカーを測定する工程を含む、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法又は治療評価判定方法を補助する方法 40
- 【 0 0 1 3 】
- 本発明のマーカーは、被験者から得られた生体試料で検出、定量、及び/又は活性等を測定することができれば、遺伝子 ( DNA、cDNA、RNA、mRNAも含む )、タンパク質 ( その断片も含む )、該タンパク質活性のいずれも測定対象とすることができる。
- 【 0 0 1 4 】
- ( 非アルコール性脂肪性肝炎の検出用マーカー )
- 本発明で使用する非アルコール性脂肪性肝炎の検出用マーカーは以下のいずれか1の群から選択できる。

## 【 0 0 1 5 】

( 1 ) 免疫反応T細胞サブセット分泌シグナルに関する遺伝子

IL-6 ( Interleukin-6 ) : インターロイキン-6、IL-10 ( Interleukin-10 ) : インターロイキン-10、MIP-1-beta ( Macrophage inflammatory protein 1-beta ) : マクロファージ炎症性タンパク質1-ベータ、IL-17F ( Interleukin-17Fprecursorを含む ) : インターロイキン-17F、IL-17 ( Interleukin-17 ) : インターロイキン-17、Amphiregulin:アンフィレグリン、IL-1 alpha ( Interleukin-1 alpha ) : インターロイキン-1アルファ、IFN-gamma ( Interferon-gamma ) : インターフェロン-ガンマ、TNF-beta ( Tumornecrosis factor-beta ) : 腫瘍壊死因子-ベータ、及びTNF-alpha ( Tumor necrosis factor-alpha ) : 腫瘍壊死因子-アルファ。

10

## 【 0 0 1 6 】

( 2 ) 免疫反応 : Native CD4+ T細胞分化に関する遺伝子

AHR ( Aryl Hydrocarbon Receptor ) : 芳香族炭化水素受容体、IL-6、IL-10、ROR-gamma ( retinoic acid-related orphan receptor-gamma ) : レチノイン酸受容体関連オーファン受容体-ガンマ、IL-17F、CD80 ( Cluster of differentiation 80 ) : 表面抗原CD80、c-Maf ( MAF bZIPtranscription factor ) : 小Maf転写因子、IL-17、CD40(TNFRSF5) : 表面抗原CD40(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー5)、IFN-gamma、及びTNF-alpha。

## 【 0 0 1 7 】

( 3 ) G-proteinsignaling\_Cross-talk between Ras-family GTPases(G蛋白シグナル\_\_Ras系GTPase間のクロストーク)に関する遺伝子

RAP-1A ( Ras-related protein Rap-1A ) : Ras関連タンパク質RAP-1A、RalA ( Ras-relatedprotein Ral-A ) : Ras関連タンパク質Ral-A、p120GAP ( p120 GTPase activating protein ) : p120グアニンヌクレオチド加水分解酵素活性化タンパク質、M-Ras ( Ras-related protein M-Ras ) : Ras関連タンパク質M-Ras、PI3K cat class IA ( Class IA Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase ) : クラスIAホスファチジルイノシトール3-キナーゼ、DBS ( Guanine nucleotide exchange factor DBS ) : グアニンヌクレオチド交換因子DBS、RhoGAP5 ( Rho GTPase activating protein 5 ) : RhoGTPase活性化タンパク質5、及びPLD1 ( Phospholipase D1 ) : ホスホリパーゼD1。

20

## 【 0 0 1 8 】

( 4 ) 関節炎におけるサイト/ケモカイン発現におけるPDE4調節に関する遺伝子

IL-6、RAP-1A、IL-10、MIP-1-beta、PI3K cat class IA、IL-17、IL-1 alpha、IFN-gamma、IP10 ( Interferon gamma-induced protein 10 ) : インターフェロンガンマ誘導タンパク質10、及びTNF-alpha。

30

## 【 0 0 1 9 】

( 5 ) 免疫反応Th17、Th22及びTh9細胞分化に関する遺伝子

AHR、IL-6、IL-10、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17、CD40(TNFRSF5)、及びTNF-alpha。

## 【 0 0 2 0 】

( 6 ) Tヘルパー細胞の免疫反応ICOSシグナルパスウェイ ( Immune response\_ICOS signalingpathway in T-helper cell ) に関する遺伝子 { T cell 細胞の免疫応答\_\_ICOS(inducibleT-cell co-stimulator)シグナルパスウェイに関連する遺伝子 }

Bcl-6 ( B-cell lymphoma 6 protein ) : B細胞リンパ腫タンパク質6、IL-10、ROR-gamma、IL-17F、PI3K cat class IA、c-Maf、IL-17、IFN-gamma、IL23R ( Interleukin-23 receptor ) : インターロイキン-23受容体、PAK1 ( p21 protein ( Cdc42/Rac)-activated kinase 1 ) : p21タンパク質 ( Cdc42/Rac ) 活性化キナーゼ1、及びTNF-alpha。

40

## 【 0 0 2 1 】

( 7 ) 加齢黄斑変性におけるNALP3インフラマソーム活性に関する遺伝子

BRCC36 ( BRCA1/BRCA2-containing complex subunit 36 ) : BRCA1/BRCA2含有複合体サブユニット36、IL-6、Caspase-1 ( interleukin-1 beta converting enzyme ) : カスパーゼ-

50

1、C1q ( ComplementComponent C1q ) : 補体C1q、IL-18R1 ( interleukin-18 receptor 1 ) : インターロイキン-18受容体1、CARD5: PYCARD ( PYD andCARD domain containing )、IL-1 alpha、及びTNF-alpha。

【 0 0 2 2 】

( 8 ) SLE ( 全身性エリテマトーデス ) におけるB細胞の役割に關与する遺伝子

IL-6、Fc gamma RII beta ( typell receptor for the Fc region of IgG beta ) : Fcガンマ受容体IIベータ、IFN-alpha ( Interferon-alpha ) : インターフェロン-アルファ、CD80、OX40(TNFRSF4) ( Tumor necrosis factorreceptor superfamily member 4 ) : 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4、PI3K cat class IA、CD40(TNFRSF5)、IFN-gamma、TNF-beta、及びTNF-alpha。

10

【 0 0 2 3 】

( 9 ) 免疫反応IL-10シグナルパスウェイに關与する遺伝子

COX-2(PTGS2) ( Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 ) : プロスタグランジン-エンドペルオキシド合成酵素2、IL-6、Heme oxygenase 1: ヘムオキシゲナーゼ1、IL-10、Fc gamma RIIbeta、CD80、HPGD ( Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase 15-(NAD) ) : 15-ヒドロキシプロスタグランジンデヒドロゲナーゼ(NAD)、PI3K cat class IA、IL-1 alpha、及びTNF-alpha。

【 0 0 2 4 】

( 1 0 ) COPD ( 慢性閉塞性肺疾患 ) における細胞間関連に關与する遺伝子

IL-6、I-TAC ( Interferon-inducible T-cell alphachemoattractant ) : インターフェロン誘導T細胞アルファ走化性因子、IL-17、CCR2 ( C-C chemokine receptor type 2 ) : C Cケモカイン受容体2、IFN-gamma、IP10、及びTNF-alpha。

20

【 0 0 2 5 】

( 1 1 ) 酸化リン酸化 ( oxidative phosphorylation ) に關与する遺伝子

シトクロムc ( Cytochrome c )、NDUFA7 { NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex subunit 7 }、NDUFS5 ( NADH:Ubiquinone OxidoreductaseSubunit S5 )、NDUFAB1 ( NADH:UbiquinoneOxidoreductase Subunit AB1 )、UQCR11 ( Ubiquinol-Cytochrome C Reductase, Complex III Subunit XI )、UQCRB ( Ubiquinol-cytochrome c reductasebinding protein )、NDUFB3 { NADHdehydrogenase (ubiquinone) 1 beta subcomplex, 3 }、NDUFA2 ( NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2 )、NDUFA13 ( NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 13 )、ATP5H ( ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial Fo complex subunit D )、NDUFA5 ( NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5 )、NDUFC2 ( NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit C2 )、NDUFC1 ( NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 subunit C1 )、及びATP5I ( ATP synthase, H+ transporting,mitochondrial Fo complex subunit E )。

30

【 0 0 2 6 】

( 1 2 ) アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割に關与する遺伝子

Beta-adrenergic receptor、ABCA1 ( ATP bindingcassette subfamily A member 1 )、P EMT ( phosphatidylethanolamine N-methyltransferase )、SDP1 ( Patatin-likephospholipase family protein )、LPL ( lipoprotein lipase )、及びHDL proteins ( High-density lipoproteins )。

40

【 0 0 2 7 】

( 1 3 ) 上皮間葉転換 ( EMT ) の発生制御に關与する遺伝子

HGF ( hepatocyte growth factor )、IL-1RI ( interleukin-1 receptor 1 )、Endothelin-1、HGF receptor { Met ( MET proto-oncogene ) }、NOTCH4 ( Neurogenic locus notch homolog 4 )、Vimentin、PAI1 ( Plasminogen activator inhibitor-1 )、PDGF-D ( platelet derived growth factor D )、Frizzled、及びTNF-alpha。

【 0 0 2 8 】

50

## ( 1 4 ) SLEにおけるNETosisに關与する遺伝子

C1q、IFN-alpha、Histone H2、Histone H2A、TLR7 ( toll like receptor 7 )、Histone H4、及びHistoneH1。

【 0 0 2 9 】

## ( 1 5 ) 免疫反応IL-1シグナルパスウェイに關与する遺伝子

COX-2 { cyclooxygenase-2; PTGS2 ( Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 ) }、IL-1RI、Endothelin-1、IL-6、Hemeoxygenase 1、IL-1 alpha、PAI1、及びTNF-alpha。

【 0 0 3 0 】

## ( 1 6 ) 免疫反応ストレス誘導抗ウイルス性細胞反応におけるPKRの役割に關与する遺伝子

IL-1RI、IL-6、IL-10、TLR3 ( toll like receptor 3 )、IFN-alpha、IFN-beta ( Interferon-beta ) : インターフェロン-ベータ、IFN-gamma、TRIF { TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-beta: TICAM1 ( toll likereceptor adaptor molecule 1 ) }、及びTNF-alpha。

【 0 0 3 1 】

## ( 1 7 ) 抗原提示細胞 ( APC ) のSLE遺伝マーカー特異的パスウェイに關与する遺伝子

IL-1RI、MDA-5 ( melanoma differentiation associated gene 5 )、IL-10、IFN-alpha、IFN-beta、IL-1 alpha、TLR7、CD40 ( TNFRSF5 )、IFN-gamma、TRIF ( TICAM1 )、及びTNF-alpha。

【 0 0 3 2 】

## ( 1 8 ) 脂質代謝の制御 { 脂肪代謝のG-アルファ(q)制御 } に關与する遺伝子

COX-2 (PTGS2)、LXR-alpha ( Liver X receptor alpha )、cPLA2 ( phospholipase A2 )、ABCA1、APOC2 ( apolipoprotein C2 )、APOC1 ( apolipoprotein C1 )、CD36: 表面抗原CD36、LPL、及びPLC-beta ( PhospholipaseC-beta )。

【 0 0 3 3 】

## ( 1 9 ) 免疫反応RNAウイルス感染への先天性免疫反応に關与する遺伝子

MDA-5、TLR3、IFN-alpha、IFN-beta、TANK ( TRAF family member associated NFKBactivator )、及びTLR7。

【 0 0 3 4 】

## ( 2 0 ) 免疫反応CD8+ T細胞の分化及びクローン増殖に關与する遺伝子

IFN-alpha、CD80、CD137 ligand ( 表面抗原CD137リガンド; TNFSF9 ) : 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9、OX40 (TNFRSF4)、IFN-beta、CD40 (TNFRSF5)、及びIFN-gamma。

【 0 0 3 5 】

## ( 2 1 ) ストレス誘導アポトーシスにおけるPKRのアポトーシス及び生存の役割に關与する遺伝子

TLR3、ATF-3 ( activating transcription factor 3 )、IFN-alpha、IFN-beta、IFN-gamma、eIF4E ( eukaryotic translation initiation factor 4E )、TRIF ( TICAM1 )、及びTNF-alpha。

【 0 0 3 6 】

## ( 2 2 ) 免疫反応 ( MAPKsを介した炎症誘発性サイトカインのP物質刺激発現 ) に關与する遺伝子

COX-2 (PTGS2)、IL-6、PI3K cat class IA { p110-beta ( phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate3-kinase catalytic subunit beta ) }、MIP-1-beta、CCL13 ( C-C motif chemokine ligand 13 )、TNF-alpha、及びPLC-beta。

【 0 0 3 7 】

## ( 2 3 ) 免疫反応IL-33シグナルパスウェイに關与する遺伝子

IL-6、IL-17F、PI3K cat class IA、Histone H2A、VCAM1 ( vascular cell adhesion molecule 1 )、Histone H2B、eNOS ( endothelial NO synthase )、及びTNF-alpha。

【 0 0 3 8 】

10

20

30

40

50

- ( 2 4 ) ユビキノン代謝に關与する遺伝子  
 NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、NDUFA5、NDUFC2、及びNDUFC1。  
 【 0 0 3 9 】
- ( 2 5 ) 免疫反応MIF媒介性グルココルチコイド制御に關与する遺伝子  
 COX-2(PGTS2)、IL-6、VCAM1、IFN-gamma、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 4 0 】
- ( 2 6 ) 加齢黄斑変性の病因における脂質輸送異常及び代謝異常に關与する遺伝子  
 Cytochrome c、C1q、Apaf-1 (apoptotic peptidase activating factor 1)、ABCA1、IL-17、IFN-gamma、CD36、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 4 1 】 10
- ( 2 7 ) 免疫反応IL-18シグナル伝達に關与する遺伝子  
 COX-2(PGTS2)、IL-6、IL-18R1、PI3K cat class IA、IL-1 alpha、CXCL16 (C-X-C motif chemokine ligand 16)、VCAM1、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 4 2 】
- ( 2 8 ) 発生HGFシグナルパスウェイに關与する遺伝子  
 HGF、COX-2 (PGTS2)、RAP-1A、HGF receptor (Met)、PI3K cat class IA、PLAU {plasminogen activator, urokinase; UPA (urokinase-type plasminogen activator) }、及びSyndecan-1。  
 【 0 0 4 3 】
- ( 2 9 ) 免疫反応Th17細胞分化に關与する遺伝子 20  
 IL-1R1、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、及びIL-17。  
 【 0 0 4 4 】
- ( 3 0 ) 免疫反応肝細胞におけるIL-6誘導性急性期応答に關与する遺伝子  
 IL-6、Heme oxygenase 1、PAI1、AGP1{ Alpha-1-acid glycoprotein 1; ORM1(orosomucoid1)}、SAA1 (serum amyloid A1)、及びSAA2 (serum amyloid A2)。  
 【 0 0 4 5 】
- ( 3 1 ) 免疫反応IL-23シグナルパスウェイに關与する遺伝子  
 ROR-gamma、IL-17F、PI3K cat class IA、IL-17、及びIL23R。  
 【 0 0 4 6 】
- ( 3 2 ) 慢性関節リウマチに關与する遺伝子 30  
 IL-6、CD80、IL-17、VCAM1、CD40(TNFRSF5)、IFN-gamma、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 4 7 】
- ( 3 3 ) 炎症性皮膚疾患における細胞/ケモカイン発現のPDE4制御に關与する遺伝子  
 IL-6、IL-10、MxA (myxovirusresistance A)、IL-17、IFN-gamma、IP10、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 4 8 】
- ( 3 4 ) 鎌状赤血球症における物質P媒介性炎症及び疼痛に關与する遺伝子  
 IL-1R1、IL-6、VCAM1、IFN-gamma、TNF-alpha、及びPLC-beta。  
 【 0 0 4 9 】
- ( 3 5 ) 免疫反応樹状細胞成熟及び移動におけるHMGB1の役割に關与する遺伝子 40  
 IL-6、CD80、CD40(TNFRSF5)、IFN-gamma、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 5 0 】
- ( 3 6 ) 免疫反応HMGB1/RAGEシグナルパスウェイに關与する遺伝子  
 IL-6、MIP-1-beta、PI3K cat class IA、IL-1 alpha、PAI1、VCAM1、及びTNF-alpha。  
 【 0 0 5 1 】
- ( 3 7 ) 転写 { 転写サイレンシングにおけるヘテロクロマチンタンパク質1 (HP1) ファミリーの役割 } に關与する遺伝子  
 CyclinA2、HP1 alpha (Heterochromatin Protein 1 alpha)、HP1 gamma (Heterochromatin Protein 1 gamma)、HP1(Heterochromatin Protein 1)、DNMT3A (DNA methyltransferase 3 alpha)、及びHistone H4。 50

- 【 0 0 5 2 】  
 ( 3 8 ) 免疫反応HSP60及びHSP70/TLRシグナルパスウェイに關与する遺伝子  
 CD69:表面抗原CD69、IL-6、HSP70 (heat shock protein 70)、IL-10、CD80、CD40(TNFRSF5)、及びTNF-alpha。
- 【 0 0 5 3 】  
 ( 3 9 ) CF中のTh17細胞に關与する遺伝子  
 IL-1RI、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17、及びVCAM1。
- 【 0 0 5 4 】  
 ( 4 0 ) 乾癬IL-23/T17発症軸の役割に關与する遺伝子  
 IL-1RI、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17、及びCD40(TNFRSF5)。 10
- 【 0 0 5 5 】  
 ( 4 1 ) 免疫反応タイプ2免疫におけるIL-4応答性遺伝子に關与する遺伝子  
 COX-2(PTGS2)、IL-10、VCAM1、CD40(TNFRSF5)、CD36、CCL13、Eotaxin-2、及びCCL7 (C-C motif chemokine ligand 7)。
- 【 0 0 5 6 】  
 ( 4 2 ) 脂肪細胞分化におけるフタル酸ジエチルヘキシル及びトリブチルスズの役割に關与する遺伝子  
 A-FABP (Adipocyte fatty acid-binding protein)、LXR-alpha、CD36、LPL、及びC/EBPalpha (CCAAT/enhancer binding protein alpha)。 20
- 【 0 0 5 7 】  
 ( 4 3 ) スキーマ: アレルギー性接触皮膚炎のT細胞動員の開始に關与する遺伝子  
 VCAM1、IFN-gamma、IP10、及びTNF-alpha。
- 【 0 0 5 8 】  
 ( 4 4 ) 結腸直腸癌に關与する遺伝子  
 HGF、IL-6、HGF receptor (Met)、Frizzled、及びTNF-alpha。
- 【 0 0 5 9 】  
 ( 4 5 ) 走化性C5a誘導走化性に關与する遺伝子  
 RAP-1A、ALPHA-PIX (Rhoguanine nucleotide exchange factor 6)、HSP27 (Heat shock protein 27)、PAK1、PLD1、及びPLC-beta。 30
- 【 0 0 6 0 】  
 ( 4 6 ) 緑内障における網膜神経節細胞損傷に關与する遺伝子  
 BAD (BCL2 associated agonist of cell death)、Endothelin-1、C1q、Factor H、EDNBR (endothelin receptor type B)、及びTNF-alpha。
- 【 0 0 6 1 】  
 ( 4 7 ) 免疫反応 (免疫反応におけるPGE2シグナル伝達) に關与する遺伝子  
 HGF、COX-2 (PTGS2)、IL-10、MIP-1-beta、IFN-gamma、及びTNF-alpha。
- 【 0 0 6 2 】  
 ( 4 8 ) 免疫反応TLR3及びTLR4誘導TICAM1-特異的シグナルパスウェイに關与する遺伝子  
 TLR3、IFN-alpha、IFN-beta、及びTRIF (TICAM1)。 40
- 【 0 0 6 3 】  
 ( 4 9 ) ビスフェノールAによる脂肪細胞分化の刺激の推定経路に關与する遺伝子  
 A-FABP、GATA-2 (GATA binding protein 2)、PI3K cat class IA、LPL、及びC/EBPalpha。 40
- 【 0 0 6 4 】  
 ( 5 0 ) 免疫反応JAK/STAT、p38、JNK及びNF-kBを介したIL-3シグナル伝達に關与する遺伝子  
 BAD、CD69、Cyclin A2、IL-6、Bcl-6、ID1 (inhibitor of DNA binding 1, HLH protein)、NOTCH4、PI3K cat class IA、及びCD40(TNFRSF5)。
- 【 0 0 6 5 】  
 ( 5 1 ) 転写骨粗鬆症關与遺伝子の制御におけるVDRの役割に關与する遺伝子 50

IL-6、Calcitonin: カルシトニン、VDR (vitamin D receptor)、IL-1 alpha、IFN-gamma、RANK (receptor activator of nuclear factor kappaB; TNFRSF11A): 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー-11a、及びTNF-alpha。

【0066】

(非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定用マーカー及び非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定用マーカー)

CD29 (Integrin beta-1): 表面抗原CD29 (インテグリンベータ1)、CD45 (ProteinTyrosine Phosphatase Receptor Type C): 表面抗原CD45 (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型)、及びCD44 (CD44 molecule (Indian blood group)): 表面抗原CD44 {CD44分子 (インド人血液型)}。

10

【0067】

(非アルコール性脂肪性肝炎)

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎は、アルコールに起因しない肝臓に脂肪が蓄積することで起こる肝炎を対象とするが、単純性脂肪肝とは異なることを意味する。

【0068】

(被験者から得られた生体試料)

本発明において、被験者とは、哺乳類全般 (ヒト、ネコ、イヌ、ウマを含む) を含み、さらに、健常者、非アルコール性脂肪性肝炎の患者、該肝炎の疑いがある人、該肝炎が将来発生する人、脂肪肝の患者、脂肪肝の疑いがある人、脂肪肝が将来発生する人も含む。

さらに、生体試料は、各マーカーとなる遺伝子及び/又はタンパク質が含まれていれば特に限定されないが、血液、血液成分 (血清、血漿、血球など)、唾液、尿、髄液、涙液、汗、毛髪、組織由来の成分、生検試料、iPS細胞、初代培養細胞を含む。

20

【0069】

(マーカーの測定方法)

本発明のマーカーが遺伝子 (DNA、RNA、cDNA、mRNA、それらの断片) である場合、特に限定されないが、自体公知の遺伝子測定方法を利用することができる。例えば、被験者から得られた生体試料中の標的とする遺伝子 (マーカー) を、プライマーを用いてRT-PCRで増幅する。標的とする遺伝子 (マーカー) が存在すれば、DNAが増幅されて生体試料中のマーカーの存在が検出される。

具体的には、次の工程からなる。

30

- ア) 被験者から得られた生体試料からmRNAを抽出する工程、
- イ) 得られたRNAを鋳型として逆転写反応によりcDNAを合成する工程、
- ウ) プライマーを生体試料中に加えてPCRを行う工程、
- エ) 増幅されたDNAを検出する工程

ア) ~ エ) の各工程は公知の方法により行うことができる。

さらに、初期、中期若しくは末期の非アルコール性脂肪性肝炎の患者、単純性脂肪肝の患者、又は健常者由来の生体試料を対照試料 (コントロール) として、その対象試料を同様の工程により処理した後に比較する工程を含むこともできる。

【0070】

その他の遺伝子を検出する方法としては、該遺伝子に特異的に結合するプローブ用の標識化ヌクレオチド、標識化cDNA又は標識化RNAを用いたノーザンブロット法、ドットブロット法、又はmRNAを直接測定する方法等を用いることができる。PCR法としては、リアルタイムPCR法、競合PCR法等も挙げることができる。

40

さらに、DNAマイクロアレイ、DNAチップ、又は抗体アレイ等が挙げられる。DNAマイクロアレイ又はDNAチップには該遺伝子のヌクレオチド又はcDNAが少なくとも1つ以上固定化されているものを用いる。なお、ヌクレオチド又はcDNAは、該遺伝子の一部に相当する部分でもよい。

【0071】

(タンパク質の検出方法)

本発明のマーカーがタンパク質である場合、特に限定されないが、自体公知のタンパク

50

質の測定方法（検出、定量、活性）を利用することができる。例えば、タンパク質に特異的に結合する抗体やアプタマー等を用いることができ、抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、2つのエピトープを同時に認識することができる二機能性抗体等を例示できる。これらの抗体は、慣用のプロトコルを用いて該ポリペプチド又はタンパク質又はそれらの断片を抗原として用いて作製することができる。また、アプタマーとは、タンパク質、アミノ酸等の分子に特異的に結合する核酸分子である。

上記タンパク質に特異的に結合する抗体を用いて、被検試料中に存在する該ポリペプチド又はタンパク質を検出又は定量する場合、免疫沈降法、電気化学発光法、RIA (radioimmunoassay) 法、ELISA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay) 法、蛍光抗体法等の公知の免疫学的方法を用いることができる。

10

#### 【0072】

さらに、RT-PCR法、免疫プロット法、SAGE、抗体を使用した免疫沈降法、プルダウン法、ELISA、ウエスタンプロット、ハイブリダイゼーション、フローサイトメトリー、比重遠心法、細胞の染色標本、組織の染色標本等を使用することができる。

#### 【0073】

（非アルコール性脂肪性肝炎の指標）

本発明の「非アルコール性脂肪性肝炎の指標」とは、非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者と非アルコール性脂肪性肝炎を有さない人（特に、単純性脂肪肝、健常者等）を区別するための被験者由来生体試料中の各マーカーの数値（基準値、平均値等）を意味する。

20

例えば、予め設定した「被験者由来生体試料の各マーカーの基準値」以上の場合には、非アルコール性脂肪性肝炎が今後発症する、現在発症している又は進行していること（可能性があること）を判定できる。

特に、予め設定した「被験者由来生体試料の各マーカーの基準値」は、単純性脂肪肝を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、又は、健常者由来生体試料中の各マーカーの平均値から算出することができる。

Cut off (カットオフ) 値の設定方法としては、単純性脂肪肝を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、又は、健常者由来生体試料中の各マーカーの平均値から算出する。通常、予め決定したcut off値の標準偏差の90%以下、好ましくは80%以下、より好ましくは70%以下、さらに好ましくは60%以下、最も好ましくは50%以下である。

30

また、別のcut off値の設定方法としては、非アルコール性脂肪性肝炎歴のない被験者において、被験者由来生体試料の各マーカーを測定して得られた値に基づき、市販の統計解析ソフトを使用してROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線を作成し、最適な感度及び特異度を求める。例えば、一次スクリーニング等の目的では感度が高い方を優先し、精査目的では特異度が高くなるようなカットオフ値を設定することが可能である。

#### 【0074】

（非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度・治療評価の指標）

40

本発明の「非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度・治療評価の指標」とは、非アルコール性脂肪性肝炎の進行度又は治療効果を判定するための被験者由来生体試料中の各マーカーの数値（基準値、平均値等）を意味する。

例えば、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度において、予め設定した「被験者由来生体試料の各マーカーの基準値」以下の場合には、非アルコール性脂肪性肝炎がMatteoni分類、NAFLD activity scoreで評価される分類（例えば、初期、中期、末期）、今後発症する、現在発症している又は非常に進行していること（可能性があること）を判定できる。

例えば、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価において、予め設定した「被験者由来生体試料の各マーカーの基準値」以上の場合には、現在行っている治療方法が好ましい（継続する、良好である、効果がある、予後良好）と判定できる。

50



特に、予め設定した「被験者由来生体試料の各マーカーの基準値」は、初期、中期若しくは末期の非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、健常者由来生体試料中の各マーカーの平均値、又は、非アルコール性脂肪性肝炎の患者の治療前又は治療中の患者由来生体試料中の各マーカーの平均値から算出することができる。

Cut off値の設定方法としては、初期、中期若しくは末期の非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値、健常者由来生体試料中の各マーカーの平均値、又は、非アルコール性脂肪性肝炎の患者の治療前又は治療中の患者由来生体試料中の各マーカーの平均値から算出する。通常、予め決定したcut off値の標準偏差の90%以下、好ましくは80%以下、より好ましくは70%以下、さらに好ましくは60%以下、最も好ましくは50%以下である。

10

#### 【0075】

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎の検出方法は、例えば、以下の工程を有する。

- (1) 被験者から得られた生体試料中の各マーカーを測定する。
- (2) 各マーカーの測定値を、非アルコール性脂肪性肝炎の指標と比較する。
- (3) 各マーカーの測定値が該指標よりも高い場合には、非アルコール性脂肪性肝炎であると判定する。

なお、指標は、単純性脂肪肝を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値を採用することが好ましい。

加えて、上記工程に、さらに、CD29、CD45及び/又はCD44を測定することにより、非アルコール性脂肪性肝炎だけでなく、さらに該肝炎の重篤度も判定することができる。

20

#### 【0076】

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定方法は、例えば、以下の工程を有する。

- (1) 被験者から得られた生体試料中の各マーカーであるCD29、CD45及び/又はCD44を測定する。
- (2) 各マーカーの測定値を、非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度の指標と比較する。
- (3) 各マーカーの測定値が該指標よりも低い場合には、非アルコール性脂肪性肝炎が重篤（進行している）と判定する。

なお、指標は、初期、中期若しくは末期の非アルコール性脂肪性肝炎を有する患者由来生体試料中の各マーカーの平均値を採用することが好ましい。

30

#### 【0077】

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定方法は、例えば、以下の工程を有する。

- (1) 非アルコール性脂肪性肝炎治療中の患者から得られた生体試料中の各マーカーであるCD29、CD45及び/又はCD44を測定する。
- (2) 各マーカーの測定値を、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価の指標と比較する。
- (3) 各マーカーの測定値が該指標よりも高い場合には、治療が良好であると判定する。

なお、指標は、非アルコール性脂肪性肝炎の患者の治療前又は治療中の患者由来生体試料中の各マーカーの値（好ましくは、平均値）を採用することが好ましい。

40

#### 【0078】

(非アルコール性脂肪性肝炎検出キット)

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎検出キットは、以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む。

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、IFN-gamma、TNF-beta、TNF-alpha、AHR、ROR-gamma、CD80、c-Maf、CD40(TNFRSF5)、RAP-1A、Ra1A、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1、IP10、Bcl-6、IL23R、PAK1、BRCC36、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、Fc gamma RII beta、IFN-alpha、OX40(TNFRSF4)、COX-2(PTGS2)、Heme oxygenase 1、HPGD、I-TAC、CCR2、Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDU

50

FC1、及びATP51。

【0079】

(非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定キット)

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎の重篤度判定キットは、以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む。

CD29、CD45及びCD44。

【0080】

(非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定キット)

本発明の非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定キットは、以下のいずれか1以上に対する抗体又は抗体フラグメントを含む。

CD29、CD45及びCD44。

【0081】

上記記載の抗体は、モノクローナル抗体であってもよく、自体公知の方法、例えばケーラーとミルシュタインの方法 (Kohler G, Milstein C. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256, 495 - 497.) にしたがって作製することもできる。

また、抗体フラグメントは、抗体の抗原認識機能を実質的に維持することができれば、どのような構造でもよく、例えば抗原認識部位 (軽鎖可変領域配列、重鎖可変領域配列) を有することが好ましい。

【0082】

以下、実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例により限定されるものではない。

【実施例1】

【0083】

以下の方法により、非アルコール性脂肪性肝炎モデル及び脂肪肝モデル (単純性脂肪肝モデル) を作製して、さらに遺伝子解析に使用した。詳細は、以下の通りである。

【0084】

(非アルコール性脂肪性肝炎マウスの作製と経時的変化)

C57BL/6Jマウス (8週齢、雌) に動脈硬化高脂肪食Atherogenic high-fat (AT+HF、参照：下記表1、参考文献：Hepatology. 2013 Sep;58(3):1133-42. doi: 10.1002/hep.26470. Epub2013 Jul 24.) を給餌し、給餌開始から2、4、8、12週後に肝臓を摘出した。摘出した肝臓はIHC Zinc Fixative (BD) で固定・パラフィン包埋し、HE、Azan染色を行った。

また、GenElute™ Mammalian Total RNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich) にて肝組織のRNAを抽出した。抽出したRNA100ngをHigh Capacity cDNA Reverse Transcription (ABI) にて、逆転写しcDNAを作製した。該cDNAを用いて、Alb、Col4a1及びTnf {Alb、Col4a1、Tnf probes (ABI)} の発現をqPCR Master mix Plus (EUROGENTEC) を用い、real-time PCRにて定量した。

【0085】

(非アルコール性脂肪性肝炎マウスと単純性脂肪肝マウスの肝病態の比較)

C57BL/6Jマウス (9-10週齢、雌) に非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)マウス作製のためにAT+HF又は単純性脂肪肝(SS)マウス作製のためにHFD-60 (参照：下記表1) を給餌し、給餌開始から4週、12週後に肝組織を採取した。

さらに、肝組織を破碎・酵素処理した後、肝実質細胞と肝内炎症細胞をPercolI™PLUS (GEHealthcare) にて分離した。分離した肝内炎症細胞はMicro RNA isolation kit (Agilent Technologies) にてRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ (Agilent Whole Mouse Genome 4 × 44K) を行った。

【0086】

10

20

30

40

【表 1】

At-HF 配合	(%)
Cocoa butter	60.0
CRF-1	38.3
Cholesterol	1.3
Cholate	0.5

**Cocoa butter(/100g)**

飽和脂肪酸	60g
多価不飽和脂肪酸	3g
一価不飽和脂肪酸	33g
Cholate:コール酸	

HFD-60 配合	(%)
Lard	33.00
Casein	25.60
$\alpha$ -corn starch	16.00
Cellulose	6.61
Maltodextrin	6.00
Sucrose	5.50
other	7.29

**Lard(/100g)**

飽和脂肪酸	39.2g
多価不飽和脂肪酸	11.2g
一価不飽和脂肪酸	45.1g
Casein:リンタンパクの一種	

## 【 0 0 8 7 】

(免疫組織化学染色)

IHC Zinc Fixativeで肝組織を固定・パラフィン包埋し、2 $\mu$ m薄切切片を作製した。脱パラフィン後、Peroxidase Blocking Reagent (Dako)による内因性ペルオキシダーゼブロッキング、Protein Block (Dako)による非特異的タンパクブロッキング後、1%BSA含有PBSで希釈したanti-Gr-1抗体 (BD)、anti-F4/80抗体 (Invitrogen)を4℃で一晩反応させた。二次抗体シンプルステインマウスMAX-PO(Rat) (ニチレイバイオサイエンス)を室温で30分反応させた後、Liquid DAB + Substrate ChromogenSystem (Dako)を用いて発色し、ヘマトキシリンにて対比染色した。

## 【 0 0 8 8 】

(非アルコール性脂肪性肝炎マウスの脂肪由来幹細胞の表面抗原の解析)

C57BL/6Jマウス (9-10週齢、雌)に非アルコール性脂肪性肝炎マウス作製のためにAT+HFを給餌し、給餌開始から4週又は12週後に脂肪由来幹細胞を採取した。

採取した脂肪由来幹細胞の発現タンパク質発現変異を、各表面抗原に対する抗体を使用してFACS解析 (フローサイトメトリー)により行った。

## 【実施例 2】

## 【 0 0 8 9 】

(非アルコール性脂肪性肝炎マウスの経時的変化の確認)

At+HF給餌2、4、8、12週後の肝組織の遺伝子発現、組織所見の検討では、経時的にAlbの低下、Col4a1とTnfの上昇傾向が認められた (図 1 B)。また組織学的には給餌開始後2週より肝細胞への脂肪沈着がみられ、4週より門脈周囲の炎症細胞浸潤を認めた。12週では脂肪化が著明となり、肝細胞周囲の線維化や肝細胞風船様腫大を認めた (図 1 A)。

以上により、AT+HF給餌により脂肪性肝炎を惹起することができることを確認した、さらに、非アルコール性脂肪性肝炎マウスが作製できていることを確認した。

## 【 0 0 9 0 】

(非アルコール性脂肪性肝炎マウスと脂肪肝マウスの肝病態の比較結果)

10

20

30

40

50

AT+HF又はHFD-60を給餌し4、12週における組織所見と肝内炎症細胞の遺伝子発現を評価した。

肝細胞においてはAT+HF給餌NASHマウスモデル、HFD-60給餌SSマウスモデルの4、12週いずれも同程度の脂肪沈着が認められた(図2A)。しかし、AT+HF給餌NASHマウスモデルでは、門脈域を中心にGr-1やF4/80陽性の炎症細胞の集簇がみられ、12週では線維化をきたした(図2A)。これらの組織所見から、AT+HF給餌NASHマウスモデルは非アルコール性脂肪性肝炎類似病態を示す一方、HFD-60給餌SSマウスモデルは単純性脂肪肝に類似した病態を示すことを確認した。

#### 【0091】

AT+HF給餌NASHマウスモデルとHFD-60給餌SSマウスモデルの肝内炎症細胞の遺伝子発現を比較した。フィルターを通過した10395の遺伝子発現を全て用いた階層クラスタリング解析では、AT+HF給餌NASHマウスモデルとHFD-60給餌SSマウスモデルの2群を完全に判別するクラスターを形成した(図2B)。

さらに、AT+HF給餌NASHマウスモデルで発現が上昇していた遺伝子について生物学的プロセスを解析したところ、proinflammatory cytokinesであるTnf (TNF)、Il1 (IL-1 alpha)、Il6 (IL-6)、ならびにIl17a (IL-17)、Il17f (IL-17F)、Rorc (ROR-gamma)、Il10 (IL-10)等の、T細胞(T cell)、リンパ球細胞(lymphocyte cell)に関わる免疫液性因子発現を確認した(図3、4)。

#### 【0092】

本実施例の結果より得られた非アルコール性脂肪性肝炎に特異的に発現した又は特異的に発現が上昇した下記の遺伝子は、非アルコール性脂肪性肝炎の検出マーカーに使用することができる(参照:図3、4)。

(免疫反応T細胞サブセット分泌シグナル: Immune response\_T cell subsets: secreted signals)

IL-6、IL-10、MIP-1-beta、IL-17F、IL-17、Amphiregulin、IL-1 alpha、INF-gamma、TNF-beta、TNF-alpha

(免疫反応Native CD4+ T細胞分化: Immune response\_Native CD4+ T cell differentiation)

AHR、IL-6、IL-10、ROR-gamma、IL-17F、CD80、c-Maf、IL-17、CD40 (TNFRSF5)、INF-gamma、TNF-alpha

(G-protein signaling\_Cross-talk between Ras-family GTPases)

RAP-1A、RaiA、p120GAP、M-Ras、PI3K cat class IA、DBS、RhoGAP5、PLD1

(関節炎におけるサイト/ケモカイン発現におけるPDE4調節: PDE4 regulation of cyto/chemokine expression in arthritis)

IL-6、RAP-1A、IL-10、MIP-1-beta、PI3K cat class IA、IL-17、IL-1 alpha、INF-gamma、IP10、TNF-alpha

(免疫反応Th17、Th22及びTh9細胞分化: Immune response\_Th17, Th22 and Th9 cell differentiation)

AHR、IL-6、IL-10、ROR-gamma、IL-17R、CD80、IL-17、CD40 (TNFRSF5)、TNF-alpha

(酸化リン酸化: oxidative phosphorylation)

Cytochrome c、NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、UQCR11、UQCRB、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、ATP5H、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1、ATP5I

(加齢黄斑変性におけるNALP3インフラマソーム活性: NALP3 inflammasome activation in age-related macular degeneration)

BRCC36、IL-6、Caspase-1、C1q、IL-18R1、CARD5、IL-1 alpha、TNF-alpha

(SLEにおけるB細胞の役割: Role of B cells in SLE)

IL-6、Fc gamma RII beta、INF-alpha、CD80、OX40 (TNFRSF4)、PI3K cat class IA、CD40 (TNFRSF5)、INF-gamma、TNF-beta、TNF-alpha

(免疫反応IL-10シグナルパスウェイ: Immune response\_IL-10 signaling pathway)

COX-2 (PTGS2)、IL-6、Hemeoxygenase 1、IL-10、Fc gamma RII beta、CD80、HPGD、PI

10

20

30

40

50

3K cat class IA、IL-1 alpha、TNF-alpha

( COPDにおける細胞間関連 : inter-cellular relations in COPD )

IL-6、I-TAC、IL-17、CCR2、INF-gamma、IP10、TNF-alpha

( Tヘルパー細胞の免疫反応ICOSシグナルパスウェイ : Immune response\_ICOS signaling pathway in T-helper cell )

Bcl-6、IL-10、ROR-gamma、IL-17F、PI3K cat class IA、c-Maf、IL-17、IFN-gamma、IL23R、PAK1、TNF-alpha

( アテローム性動脈硬化症に關与する遺伝子の発現の制御におけるZNF202の役割 : Role of ZNF202 in regulation of expression of genes involved in atherosclerosis )

Beta-adrenergic receptor、ABCA1 ( ATP binding cassette subfamily A member 1 )、PEMT ( phosphatidylethanolamine N-methyltransferase )、SDP1 ( Patatin-like phospholipase family protein )、LPL ( lipoprotein lipase )、HDL proteins ( High-density lipoproteins )

{ 上皮間葉転換 ( EMT ) の発生制御 : Development\_Regulation of epithelial-to-mesenchymal transition ( EMT ) }

HGF ( hepatocyte growth factor )、IL-1RI ( interleukin-1 receptor 1 )、Endothelin-1、HGF receptor { Met ( MET proto-oncogene ) }、NOTCH4 ( Neurogenic locus notch homolog 4 )、Vimentin、PAI1 ( Plasminogen activator inhibitor-1 )、PDGF-D ( platelet derived growth factor D )、Frizzled、TNF-alpha

( SLEにおけるNETosis : NETosis in SLE )

C1q、IFN-alpha、Histone H2、Histone H2A、TLR7 ( toll like receptor 7 )、Histone H4、Histone H1

( 免疫反応IL-1シグナルパスウェイ : Immune response\_IL-1 signaling pathway )

COX-2 { cyclooxygenase-2; PTGS2 ( Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 ) }、IL-1RI、Endothelin-1、IL-6、Heme oxygenase 1、IL-1 alpha、PAI1、TNF-alpha

( 免疫反応ストレス誘導抗ウイルス性細胞反応におけるPKRの役割 : Immune response\_Role of PKR in stress-induced antiviral cell response )

IL-1RI、IL-6、IL-10、TLR3 ( toll like receptor 3 )、IFN-alpha、IFN-beta ( Interferon-beta ) : インターフェロン-ベータ、IFN-gamma、TRIF { TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon-beta: TICAM1 ( toll like receptor adaptor molecule 1 ) }、TNF-alpha

{ 抗原提示細胞 ( APC ) のSLE遺伝マーカー特異的パスウェイ : SLE genetic marker-specific pathways in antigen-presenting cells ( APC ) }

IL-1RI、MDA-5 ( melanoma differentiation associated gene 5 )、IL-10、IFN-alpha、IFN-beta、IL-1 alpha、TLR7、CD40 ( TNFRSF5 )、IFN-gamma、TRIF ( TICAM1 )、TNF-alpha

[ 脂質代謝の制御 { 脂肪代謝のG-アルファ(q)制御 } : Regulation of lipid metabolism\_G-alpha(q) regulation of lipid metabolism ]

COX-2 ( PTGS2 )、LXR-alpha ( Liver X receptor alpha )、cPLA2 ( phospholipase A2 )、ABCA1、APOC2 ( apolipoprotein C2 )、APOC1 ( apolipoprotein C1 )、CD36: 表面抗原CD36、LPL、PLC-beta ( Phospholipase C-beta )

( 免疫反応RNAウイルス感染への先天性免疫反応 : Immune response\_Innate immune response to RNA viral infection )

MDA-5、TLR3、IFN-alpha、IFN-beta、TANK ( TRAF family member associated NFKB activator )、TLR7

( 免疫反応CD8+ T細胞の分化及びクローン増殖 : Immune response\_Differentiation and clonal expansion of CD8+ T cells )

IFN-alpha、CD80、CD137 ligand ( 表面抗原CD137リガンド ; TNFSF9 ) : 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9、OX40 ( TNFRSF4 )、IFN-beta、CD40 ( TNFRSF5 )、IFN-gamma

10

20

30

40

50

( ストレス誘導アポトーシスにおけるPKRのアポトーシス及び生存の役割 : Apoptosis and survival\_Role of PKR in stress-induced apoptosis )

TLR3、ATF-3 ( activating transcription factor 3 )、IFN-alpha、IFN-beta、IFN-gamma、eIF4E ( eukaryotic translation initiation factor 4E )、TRIF ( TICAM1 )、TNF-alpha

{ 免疫反応 ( MAPKsを介した炎症誘発性サイトカインのP物質刺激発現 ) : Immune response\_Substance P-stimulated expression of proinflammatory cytokines via MAPKs }

COX-2 ( PTGS2 )、IL-6、PI3Kcat class IA { p110-beta ( phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate3-kinase catalytic subunit beta ) }、MIP-1-beta、CCL13 ( C-C motif chemokine ligand 13 )、TNF-alpha、PLC-beta

( 免疫反応IL-33シグナルパスウェイ : Immune response\_IL-33signaling pathway )

IL-6、IL-17F、PI3K catclass IA、Histone H2A、VCAM1 ( vascular cell adhesion molecule 1 )、Histone H2B、eNOS ( endothelia NO synthase )、TNF-alpha

( コピキノン代謝 : Ubiquinone metabolism )

NDUFA7、NDUFS5、NDUFAB1、NDUFB3、NDUFA2、NDUFA13、NDUFA5、NDUFC2、NDUFC1

( 免疫反応MIF媒介性グルココルチコイド制御 : Immune response\_MIF-mediatedglucocorticoid regulation )

COX-2 ( PTGS2 )、IL-6、VCAM1、IFN-gamma、TNF-alpha

( 加齢黄斑変性の病因における脂質輸送異常及び代謝異常 : Aberrantlipid trafficking and metabolism in age-related macular degeneration pathogenesis )

Cytochrome c、C1q、Apaf-1 ( apoptotic peptidase activating factor 1 )、ABCA1、IL-17、IFN-gamma、CD36、TNF-alpha

( 免疫反応IL-18シグナル伝達 : Immune response\_IL-18 signaling )

COX-2 ( PTGS2 )、IL-6、IL-18R1、PI3K cat class IA、IL-1 alpha、CXCL16 ( C-X-C motif chemokine ligand 16 )、VCAM1、TNF-alpha

( 発生HGFシグナルパスウェイ : Development\_HGF signaling pathway )

HGF、COX-2 ( PTGS2 )、RAP-1A、HGF receptor ( Met )、PI3K cat class IA、PLAU { plasminogen activator, urokinase; UPA ( urokinase-type plasminogen activator ) }、Syndecan-1

( 免疫反応Th17細胞分化 : Immune response\_Th17 cell differentiation )

IL-1R1、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17

( 免疫反応肝細胞におけるIL-6誘導性急性期応答 : Immune response\_IL-6-induced acute-phase response in hepatocytes )

IL-6、Heme oxygenase 1、PAI1、AGP1 { Alpha-1-acid glycoprotein 1; ORM1 ( orosomucoid 1 ) }、SAA1 ( serum amyloid A1 )、SAA2 ( serum amyloid A2 )

( 免疫反応IL-23シグナルパスウェイ : Immune response\_IL-23 signaling pathway )

ROR-gamma、IL-17F、PI3Kcat class IA、IL-17、IL23R

( 慢性関節リウマチ : Rheumatoid arthritis )

IL-6、CD80、IL-17、VCAM1、CD40 ( TNFRSF5 )、IFN-gamma、TNF-alpha

( 炎症性皮膚疾患における細胞/ケモカイン発現のPDE4制御 : PDE4 regulation of cyto/c hemokine expression in inflammatory skin diseases )

IL-6、IL-10、MxA ( myxovirus resistance A )、IL-17、IFN-gamma、IP10、TNF-alpha  
( 鎌状赤血球症における物質P媒介性炎症及び疼痛 : Substance P-mediated inflammation and pain in Sickle cell disease )

IL-1R1、IL-6、VCAM1、IFN-gamma、TNF-alpha、PLC-beta

( 免疫反応樹状細胞成熟及び移動におけるHMGB1の役割 : Immune response\_Role of HMGB1 in dendritic cell maturation and migration )

IL-6、CD80、CD40 ( TNFRSF5 )、IFN-gamma、TNF-alpha

( 免疫反応HMGB1/RAGEシグナルパスウェイ : Immune response\_HMGB1/RAGE signaling pathway )

10

20

30

40

50

IL-6、MIP-1-beta、PI3Kcat class IA、IL-1 alpha、PAI1、VCAM1、TNF-alpha

[ 転写 { 転写サイレンシングにおけるヘテロクロマチンタンパク質1 (HP1) ファミリーの役割 } : Transcription\_Role of heterochromatin protein 1 (HP1) family in transcriptional silencing ]

Cyclin A2、HP1 alpha (Heterochromatin Protein 1 alpha)、HP1 gamma (Heterochromatin Protein 1 gamma)、HP1(Heterochromatin Protein 1)、DNMT3A (DNA methyltransferase 3 alpha)、Histone H4

( 免疫反応HSP60及びHSP70/TLRシグナルパスウェイ : Immune response\_HSP60 and HSP70/TLR signaling pathway )

CD69: 表面抗原CD69、IL-6、HSP70 (heat shock protein 70)、IL-10、CD80、CD40(TNFRSF5)、TNF-alpha 10

( CF中のTh17細胞 : Th17 cells in CF )

IL-1R1、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17、VCAM1

( 乾癬IL-23/T17発症軸の役割 : Role of IL-23/ T17 pathogenic axis in psoriasis )

IL-1R1、IL-6、ROR-gamma、IL-17F、CD80、IL-17、及びCD40(TNFRSF5)。

( 免疫反応タイプ2免疫におけるIL-4応答性遺伝子 : Immune response\_IL-4-responsive genes in type 2 immunity )

COX-2 (PTGS2)、IL-10、VCAM1、CD40(TNFRSF5)、CD36、CCL13、Eotaxin-2、CCL7 (C-C motif chemokine ligand 7)

( 脂肪細胞分化におけるフタル酸ジエチルヘキシル及びトリブチルスズの役割 : Role of Diethylhexyl Phthalate and Tributyltin in fat cell differentiation ) 20

A-FABP (Adipocytefatty acid-binding protein)、LXR-alpha、CD36、LPL、C/EBPalpha (CCAAT/enhancer binding protein alpha)

( スキーマ : アレルギー性接触皮膚炎のT細胞動員の開始 : Schema: Initiation of T cell recruitment in allergic contact dermatitis )

VCAM1、IFN-gamma、IP10、TNF-alpha

( 結腸直腸癌 : Colorectal cancer )

HGF、IL-6、HGF receptor (Met)、Frizzled、TNF-alpha

( 走化性C5a誘導走化性 : Chemotaxis\_C5a-induced chemotaxis )

RAP-1A、ALPHA-PIX (Rho guanine nucleotide exchange factor 6)、HSP27 (Heat shock protein 27)、PAK1、PLD1、PLC-beta 30

( 緑内障における網膜神経節細胞損傷 : Retinal ganglion cell damage in glaucoma )

BAD (BCL2 associated agonist of cell death)、Endothelin-1、C1q、Factor H、EDN RB (endothelin receptortype B)、TNF-alpha

{ 免疫反応 ( 免疫反応におけるPGE2シグナル伝達 ) : Immune response\_PGE2 signaling in immune response }

HGF、COX-2 (PTGS2)、IL-10、MIP-1-beta、IFN-gamma、TNF-alpha

( 免疫反応TLR3及びTLR4誘導TICAM1-特異的シグナルパスウェイ : Immune response\_TLR3 and TLR4 induced TICAM1-specific signaling pathway )

TLR3、IFN-alpha、IFN-beta、TRIF (TICAM1)

( ビスフェノールAによる脂肪細胞分化の刺激の推定経路 : Putative pathways for stimulation of fat cell differentiation by Bisphenol A ) 40

A-FABP、GATA-2 (GATA binding protein 2)、PI3K cat class IA、LPL、C/EBPalpha

( 免疫反応JAK/STAT、p38、JNK及びNF-kBを介したIL-3シグナル伝達 : Immune response\_IL-3 signaling via JAK/STAT, p38, JNK and NF-kB )

BAD、CD69、Cyclin A2、IL-6、Bcl-6、ID1 (inhibitor of DNA binding 1, HLH protein)、NOTCH4、PI3K cat class IA、CD40(TNFRSF5)

( 転写骨粗鬆症関与遺伝子の制御におけるVDRの役割 : Transcription\_Role of VDR in regulation of genes involved in osteoporosis )

IL-6、Calcitonin: カルシトニン、VDR (vitamin D receptor)、IL-1 alpha、IFN-gam 50

ma, RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B; TNFRSF11A) : 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー11a、TNF-alpha

【実施例3】

【0093】

(非アルコール性脂肪性肝炎進行度の相違による表面抗原解析)

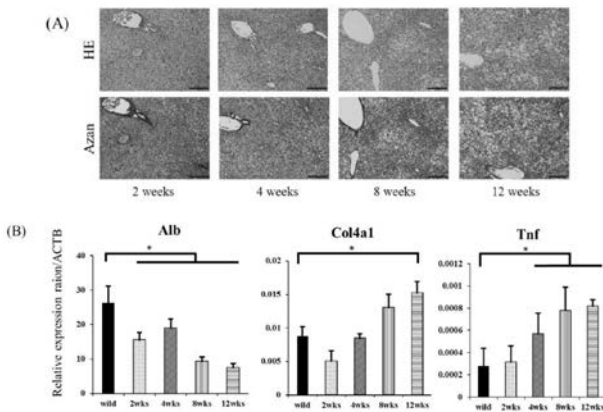
4週目(非アルコール性脂肪性肝炎発症期)の非アルコール性脂肪性肝炎マウス作製由来の脂肪由来細胞の表面抗原と12週目(非アルコール性脂肪性肝炎が進行している)の非アルコール性脂肪性肝炎マウス作製由来の脂肪由来細胞の表面抗原を比較した(図5)。

CD29、CD45及びCD44は、非アルコール性脂肪性肝炎が進行するにつれて、発現量が減少することを確認した。

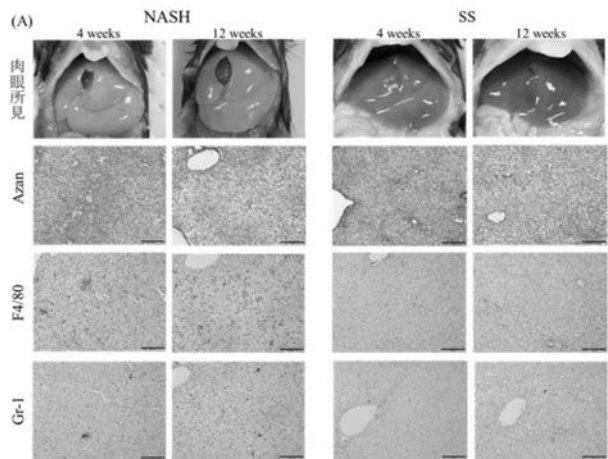
以上により、CD29、CD45及びCD44は、非アルコール性脂肪性肝炎の進行度合い(重篤度)のマーカーになることを確認した。

加えて、CD29、CD45及びCD44は、非アルコール性脂肪性肝炎の治療評価判定のマーカーにもなる。より詳しくは、非アルコール性脂肪性肝炎の治療方法が成功していれば、CD29、CD45及びCD44の発現量が減少しない、又は、該治療方法が成功していなければCD29、CD45及びCD44の発現量が減少する。

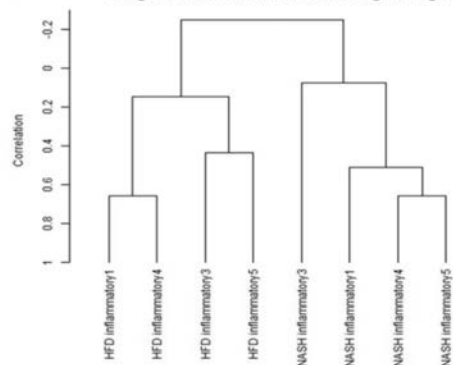
【図1】



【図2】



(B) Dendrogram for clustering experiments, using centered correlation and average linkage.





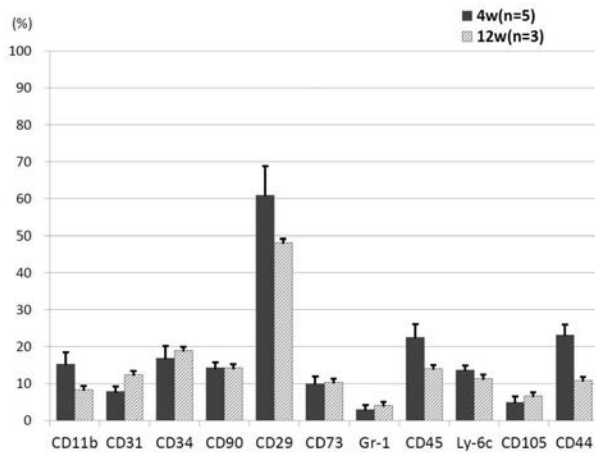
【 図 3 】

Enrichment analysis report							200 genes (M0501) vs. class (M10) (FC: 1.5) (FDR: 0.001) (GeneSet)							
Enrichment by Pathway Maps							Network Objects from Active Data							
#	Maps	Total	p-value	Min FDR	q-value	FDR	In Data	Network Objects from Active Data						
1	Immune response_T cell subsets: secreted signals	25	4.084E-09	3.051E-06	4.084E-09	3.051E-06	10	I-L, IL-10, MIP-1 beta, IL-17, IL-17, Angiopoietin, IL-1 alpha, IFN-gamma, TNF-beta, TNF-alpha						
2	Immune response_Naive CD4+ T cell differentiation	46	2.969E-07	1.117E-04	2.969E-07	1.117E-04	11	AMH, IL-6, IL-10, ROR-gamma, IL-17, CD80, CD40, IL-17, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, TNF-alpha						
3	IS-glycan signaling_Cross-talk between Rho-family GTPases	23	5.517E-07	1.374E-04	5.517E-07	1.374E-04	8	RAP-1A, RAB, p115RAP, M-Ras, PI3K cat class IA, RAS, RhoGAP5, PLD1						
4	PDFA regulation of cytochrome expression in arthritis	40	4.027E-09	7.530E-04	4.027E-09	7.530E-04	10	IL-6, RAP-1A, IL-10, MIP-1 beta, PI3K cat class IA, IL-17, IL-1 alpha, IFN-gamma, IFN-gamma						
5	Immune response_Th17, Th22 and Th1 cell differentiation	39	5.044E-09	7.530E-04	5.044E-09	7.530E-04	9	AMH, IL-6, IL-10, ROR-gamma, IL-17, CD80, IL-17, CD40(TNFRSF5), TNF-alpha						
6	Oxidative phosphorylation	105	1.205E-05	1.612E-03	1.205E-05	1.612E-03	14	Cytochrome c, NDUF7, NDUF95, NDUFAB1, UQCRI1, UQCRCB, NDUFB1, NDUF42, NDUF43, ATP5B, NDUF45, NDUF2C						
7	NALP3 inflammasome activation in age-related macular degeneration (AMD)	35	1.847E-05	1.847E-05	1.847E-05	1.847E-05	8	BRCC3B, IL-6, Caspase-1, C1q, IL-18R1, CARD6, IL-1 alpha, TNF-alpha						
8	Role of B cells in SLE	57	2.029E-05	1.894E-03	2.029E-05	1.894E-03	10	IL-6, Fc gamma RII beta, IFN-alpha, CD80, CD40(TNFRSF5), PI3K cat class IA, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, TNF-beta, TNF-alpha						
9	Immune response_IL-10 signaling pathway	42	4.336E-05	3.580E-03	4.336E-05	3.580E-03	10	COX-2 (PTGS2), IL-6, Heme oxygenase 1, IL-10, Fc gamma RII beta, CD80, HPDG, PI3K cat class IA, IL-1 alpha, TNF-alpha						
10	Inter-cellular relations in COPD (general schema)	30	5.412E-05	3.580E-03	5.412E-05	3.580E-03	7	IL-6, IL-6, IL-17, CCR2, IFN-gamma, IFN-gamma						
11	Role of ZNF202 in regulation of expression of genes involved in atherosclerosis	21	5.409E-05	3.580E-03	5.409E-05	3.580E-03	6	Beta adrenergic receptor, ABCA1, PEMT, SCF1, LPL, HDL, proteins						
12	Development, regulation of epithelial to mesenchymal transition (EMT)	64	5.751E-05	3.580E-03	5.751E-05	3.580E-03	10	HGF, IL-1R1, Endothelin 1, HGF receptor (MET), NOTCH4, Vimentin, PAH, PDGF-G, Fizzled, TNF-alpha						
13	NETosis in SLE	31	6.787E-05	3.900E-03	6.787E-05	3.900E-03	7	C1q, IFN-alpha, Histone H2, Histone H2A, TLR7, Histone H4, Histone H1						
14	Immune response_IL-1 signaling pathway	44	1.802E-04	5.696E-03	1.802E-04	5.696E-03	8	COX-2 (PTGS2), IL-1R1, Endothelin 1, IL-6, Heme oxygenase 1, IL-1 alpha, PAH, TNF-alpha						
15	Immune response_Role of PI3K in stress-induced antiviral cell response	57	1.243E-04	6.054E-03	1.243E-04	6.054E-03	9	IL-1R1, IL-6, IL-10, TLR3, IFN-alpha, IFN-beta, IFN-gamma, TRIF (TRICAM1), TNF-alpha						
16	SLE genetic marker specific pathways in antigen-presenting cells (APC)	84	1.206E-04	6.054E-03	1.206E-04	6.054E-03	11	IL-1R1, MEA-5, IL-10, IFN-alpha, IFN-beta, IL-1 alpha, TLR7, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, TRIF (TRICAM1), TNF-alpha						
17	Regulation of lipid metabolism_G-alpha(2); regulation of lipid metabolism	61	2.124E-04	9.331E-03	2.124E-04	9.331E-03	9	COX-2 (PTGS2), LXR-alpha, ePLA2, ABCA1, APOC2, APOC1, CD36, LPL, PLC-beta4						
18	Immune response_Induce immune response to RNA viral infection	28	3.099E-04	1.233E-02	3.099E-04	1.233E-02	6	MDA-5, TLR3, IFN-alpha, IFN-beta, TANK, TLR7						
19	Immune response_Differentiation and clonal expansion of CD4+ T cells	36	3.135E-04	1.233E-02	3.135E-04	1.233E-02	7	IFN-alpha, CD80, CD137 (signal TNFRSF3), CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma						
20	Apoptosis and survival_Role of PI3K in stress-induced apoptosis	33	4.802E-04	1.517E-02	4.802E-04	1.517E-02	8	TLR3, ATR-3, IFN-alpha, IFN-beta, IFN-gamma, vIF4E, TRIF (TRICAM1), TNF-alpha						
21	Immune response_Substance P-stimulated expression of proinflammatory cytokines via MAPKs	43	5.849E-04	2.077E-02	5.849E-04	2.077E-02	7	COX-2 (PTGS2), IL-6, PI3K cat class IA (p110beta), MIP-1 beta, CCL13, TNF-alpha, PLC-beta						
22	Immune response_IL-33 signaling pathway	57	6.729E-04	2.287E-02	6.729E-04	2.287E-02	8	IL-6, IL-17, PI3K cat class IA, Histone H2A, VCAM1, Histone H2B, ARHGAP, TNF-alpha						
23	Uricanone metabolism	74	9.195E-04	2.736E-02	9.195E-04	2.736E-02	9	NDUF7, NDUF95, NDUFAB1, NDUFB1, NDUF42, NDUF43, NDUF45, NDUF2C, NDUF1						
24	Immune response_BIF-mediated glucocorticoid regulation	23	9.325E-04	2.736E-02	9.325E-04	2.736E-02	5	COX-2 (PTGS2), IL-6, VCAM1, IFN-gamma, TNF-alpha						
25	Aberrant lipid trafficking and metabolism in age-related macular degeneration pathogenesis	60	9.529E-04	2.736E-02	9.529E-04	2.736E-02	8	Cytochrome c, C1q, ApoA1, ABCA1, IL-17, IFN-gamma, CD36, TNF-alpha						

【 図 4 】

Enrichment analysis report							200 genes (M0501) vs. class (M10) (FC: 1.5) (FDR: 0.001) (GeneSet)							
Enrichment by Pathway Maps							Network Objects from Active Data							
#	Maps	Total	p-value	Min FDR	q-value	FDR	In Data	Network Objects from Active Data						
26	Immune response_IL-18 signaling	60	9.529E-04	2.736E-02	9.529E-04	2.736E-02	8	COX-2 (PTGS2), IL-6, IL-18R1, PI3K cat class IA, IL-1 alpha, CCL13, VCAM1, TNF-alpha						
27	Development_HGF signaling pathway	47	1.014E-03	2.804E-02	1.014E-03	2.804E-02	7	HGF, COX-2 (PTGS2), RAP-1A, HGF receptor (MET), PI3K cat class IA, PLAU (GPA), Syndecan-1						
28	Immune response_Th17 cell differentiation	35	1.091E-03	2.910E-02	1.091E-03	2.910E-02	6	IL-1R1, IL-6, ROR-gamma, IL-17, CD80, IL-17						
29	Immune response_IL-6-induced acute phase response in h	36	1.272E-03	3.276E-02	1.272E-03	3.276E-02	6	IL-6, Heme oxygenase 1, PAH, AGP1 (ORR1), SAA1, SAA2						
30	Immune response_IL-23 signaling pathway	25	1.302E-03	3.442E-02	1.302E-03	3.442E-02	5	ROR-gamma, IL-17, PI3K cat class IA, IL-17, IL-23R						
31	Rheumatoid arthritis (general schema)	50	1.474E-03	3.442E-02	1.474E-03	3.442E-02	7	IL-6, CD80, IL-17, VCAM1, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, TNF-alpha						
32	PDFA regulation of cytochrome expression in inflamm	50	1.474E-03	3.442E-02	1.474E-03	3.442E-02	7	IL-6, IL-10, MA, IL-17, IFN-gamma, IFN-gamma						
33	Substance P-mediated inflammation and pain in Sicke cell	38	1.702E-03	3.852E-02	1.702E-03	3.852E-02	6	IL-1R1, IL-6, VCAM1, IFN-gamma, TNF-alpha, PLC-beta						
34	Immune response_Role of HMR2B1 in dendritic cell maturat	27	1.999E-03	4.262E-02	1.999E-03	4.262E-02	5	IL-6, CD80, CD40(TNFRSF5), IFN-gamma, TNF-alpha						
35	Immune response_HMR1/RAGE signaling pathway	53	2.084E-03	4.448E-02	2.084E-03	4.448E-02	7	IL-6, MIP-1 beta, PI3K cat class IA, IL-1 alpha, VCAM1, TNF-alpha						
36	Transcripto_Role of heterochromatin protein 1 (HP1) ban	40	2.234E-03	4.454E-02	2.234E-03	4.454E-02	6	Cyclin A2, HP1 alpha, HP1 gamma, HP1, DNMT3A, Histone H4						
37	Immune response_HSP90 and HSP70 TLR signaling path	54	2.325E-03	4.454E-02	2.325E-03	4.454E-02	7	CD69, IL-6, HSP70, IL-10, CD80, CD40(TNFRSF5), TNF-alpha						
38	Th17 cells in CF	54	2.325E-03	4.454E-02	2.325E-03	4.454E-02	7	IL-1R1, IL-6, ROR-gamma, IL-17, CD80, IL-17, VCAM1						
39	Role of IL-23/Th17 pathogenic axis in psoriasis	54	2.325E-03	4.454E-02	2.325E-03	4.454E-02	7	IL-1R1, IL-6, ROR-gamma, IL-17, CD80, IL-17, VCAM1						
40	Immune response_IL-4 responsive genes in type 2 immun	70	2.813E-03	4.879E-02	2.813E-03	4.879E-02	8	COX-2 (PTGS2), IL-6, VCAM1, CD40(TNFRSF5), CD36, CCL13, Ectoderm-2, CCL7						
41	Role of Diethylstilbestrol and Toluolol in fat cell diffe	29	2.780E-03	5.056E-02	2.780E-03	5.056E-02	5	A-FABP, LXR-alpha, CD36, LPL, CEBPalpha						
42	Schemis Inhibition of T cell recruitment in allergic contact	18	2.844E-03	5.056E-02	2.844E-03	5.056E-02	4	VCAM1, IFN-gamma, IFN-gamma						
43	Colorectal cancer (general schema)	30	3.244E-03	5.526E-02	3.244E-03	5.526E-02	5	HGF, IL-6, HGF receptor (MET), Fizzled, TNF-alpha						
44	Chemokines_CCL-induced chemotaxis	43	3.205E-03	5.526E-02	3.205E-03	5.526E-02	6	RAP-1A, ALPHA, PKP, P22, PAH1, PLD1, PLC-beta						
45	Histone ganglion cell damage in gliomas	44	3.682E-03	6.080E-02	3.682E-03	6.080E-02	6	BAD, Endothelin 1, C1q, Factor H, EDNRA, TNF-alpha						
46	Immune response_PGE2 signaling in immune response	45	4.107E-03	6.696E-02	4.107E-03	6.696E-02	6	HGF, COX-2 (PTGS2), IL-10, MIP-1 beta, IFN-gamma, TNF-alpha						
47	Immune response_TLR3 and TLR4 induced TRAM1-spac	30	4.266E-03	6.749E-02	4.266E-03	6.749E-02	4	TLR3, IFN-alpha, IFN-beta, TRIF (TRICAM1)						
48	Pulative pathways for stimulation of fat cell differentiation b	32	4.335E-03	6.749E-02	4.335E-03	6.749E-02	5	A-FABP, GATA-2, PI3K cat class IA, LPL, CEBPalpha						
49	Immune response_IL-7 signaling via JAK/STAT, p38, JAK	53	4.518E-03	6.888E-02	4.518E-03	6.888E-02	9	BAD, CD80, Cyclin A2, IL-6, Bcl-6, ID1, NOTCH, PI3K cat class IA, CD40(TNFRSF5)						
50	Transcripto_Role of YCR in regulation of genes involv	61	4.671E-03	6.976E-02	4.671E-03	6.976E-02	7	IL-6, Cytosine, YCR, IL-1 alpha, IFN-gamma, (BIRC6)TNFRSF13A, TNF-alpha						

【 図 5 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 金子 周一  
石川県金沢市角間町又7番地 国立大学法人金沢大学内
- (72)発明者 餅田 初音  
石川県金沢市角間町又7番地 国立大学法人金沢大学内